

Ultrafiolet indukuje wiele niepożądanych efektów w skórze, takich jak rumień, immunosupresja czy zmiany nowotworowe. Czerniak złośliwy (łac. *melanoma malignum*), powstający z uszkodzonego melanocyta, jest niebezpiecznym i wyjątkowo trudnym w leczeniu nowotworem. Badania epidemiologiczne wskazują na związek czerniaka skóry z ekspozycją osób wrażliwych, szczególnie dzieci, na promieniowanie słoneczne.

W niniejszym artykule podsumowano dotychczasową wiedzę na temat roli promieniowania UV w indukcji czerniaka oraz omówiono nieliczne dostępne modele zwierzęce, w tym najnowszy model transgenicznego myszy FVB HGF/SF (czynnik wzrostu hepatocytów/czynnik rozproszenia). Tylko u noworodka myszy FVB HGF/SF napromieniowanej promieniowaniem ultrafioletowym (UV) z wiekiem pojawia się czerniak skóry przypominający ludzkiego pod względem etiologii, histopatologii i patogenety. Omówiono również znaczenie melaniny – pigmentu produkowanego przez melanocyty i komórki większości czerniaków – w powstawaniu zmian nowotworowych w skórze. W walce z tymi groźnymi nowotworami badania z zastosowaniem modeli zwierzęcych mogą przyczynić się do lepszego poznania choroby i tym samym lepszej prewencji.

Słowa kluczowe: HGF/SF, melanina, czerniak skóry, mysz transgeniczna, ultrafiolet.

Rola promieniowania UV w etiopatogenezie czerniaka skóry

Role of UV irradiation in aetiopathogenesis of malignant melanoma

Agnieszka Wolnicka-Głubisz, Przemysław M. Płonka

Zakład Biofizyki, Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii, Uniwersytet Jagielloński w Krakowie

Zachorowalność na czerniaka w ostatnich latach i jej domniemane przyczyny

W ostatnich dekadach obserwuje się istotny wzrost zachorowań na czerniaka złośliwego (łac. *melanoma malignum*) zarówno wśród kobiet, jak i mężczyzn [1]. Mimo iż Polska należy do krajów o niskim wskaźniku zachorowalności (2–5 na 100 tys. mieszkańców), to również i tu odnotowuje się jego wzrost rocznie o 2,6% wśród mężczyzn i 4,4% wśród kobiet. Przeglądu literatury na temat aktualnych możliwości leczenia czerniaka w Polsce dokonał w swej pracy Kycler i Teresiak. Niepokojąco przedstawiają się doniesienia o wzroście liczby śmiertelnych przypadków czerniaka [2]. Trudno wskazać jednoznacznie przyczynę tego faktu, ponieważ czerniak jest chorobą wynikającą ze skomplikowanego współistnienia czynników zewnętrznych – środowiskowych, w tym zwłaszcza ekspozycji nagiej skóry na promieniowanie słoneczne, oraz wewnętrznych – genetycznych.

Najwięcej przypadków czerniaka złośliwego odnotowuje się w Queensland, w Australii (ok. 40–60 zachorowań na 100 tys. mieszkańców rocznie), wśród ludności o fototypie 1 i 2, czyli o bardzo jasnej karnacji, pochodzącej z Europy (głównie z Wielkiej Brytanii), która zamieszkuje rejony tropikalne i subtropikalne [2, 3]. Zarówno w USA, gdzie współczynnik zachorowań wynosi 10–20 przypadków na 100 tys. mieszkańców rocznie, jak i w Australii, liczba przypadków czerniaka koreluje z szerokością geograficzną – im niższa szerokość geograficzna, czyli im bliżej równika, tym wyższe napromieniowanie UV i tym więcej przypadków czerniaka [4]. Natomiast w Europie jest odwrotnie, najwyższy wskaźnik zachorowań odnotowuje się w Skandynawii, (Norwegia ok. 15 przypadków rocznie), a najmniej w krajach śródziemnomorskich (ok. 5–7) [2, 5]. Wiąże się to najprawdopodobniej z nasiloną migracją ludności oraz z popularyzacją wypoczynku w krajach o większej ekspozycji na promieniowanie słoneczne, a także – paradoksalnie – z używaniem kosmetyków zawierających filtry UV, ponieważ wiąże się to z poczuciem braku zagrożenia podczas przedłużonego przebywania na słońcu [6].

Symptomatyczne są wyniki badań, przeprowadzonych wśród emigrantów, które wykazują istnienie korelacji między występowaniem tego nowotworu w wieku dorosłym a ekspozycją na wysokie dawki promieniowania nadfioletowego (UV) w dzieciństwie. U dzieci urodzonych w Wielkiej Brytanii, które wcześniej przeniosły się do Australii, występuje większe ryzyko czerniaka niż u osób, które wyemigrowały jako dorośli [7]. Podobnie u mieszkańców Izraela, większe ryzyko grozi dzieciom urodzonym w Izraelu niż imigrantom, którzy urodzeni jeszcze w Europie, Rosji czy Ameryce Północnej przybyli do Izraela jako dorośli [8].

Jednym z głównych czynników ryzyka, zwłaszcza w przypadku ludzi o jasnej karnacji, są oparzenia skóry związane z ekspozycją na promienie słoneczne [9]. Fitzpatrick wprowadził ogólną klasyfikację koloru ludzkiej skóry

UV irradiation has multiple effects on skin including erythema, immunosuppression and the induction of keratinocyte-derived skin cancers and cutaneous malignant melanoma. Cutaneous malignant melanoma, which arises from damage to the melanocytes, the pigment cells of the skin, is the most lethal of the skin cancers, known for its intractability to current therapies. Cutaneous malignant melanoma is associated in epidemiological studies with sun exposure of susceptible populations, especially children.

In this review, we summarize the experimental information available on the role of UV radiation in melanoma and give an overview of a new melanoma model. Neonatally irradiated with UV, HGF/SF (hepatocyte growth factor/scatter factor) transgenic mice with age develop melanoma which recapitulates the aetiology, the histopathology and molecular pathogenesis of human disease. We also describe the role of melanin in the process of skin carcinogenesis. Melanin is the basic skin pigment present also in most types of melanoma. Studies on animal models for melanoma, especially HGF/SF transgenic mice, may help not only in understanding this lethal disease but also help to prevent it.

Key words: HGF/SF, melanin, melanoma, transgenic mouse, ultraviolet.

ze względu na jej fototyp, czyli pigmentację skóry i efekt działania na nią promieniowania słonecznego (tab. 1.) [10]. Generalnie raki skóry pojawiają się częściej u rasy kaukaskiej niż u przedstawicieli ras cechujących się ciemniejszym zabarwieniem skóry, takich jak Afrykanie, Latynosi czy Hindusi [11]. Najgroźniejsze jest przebywanie na słońcu ludzi o fototypie 1 i 2 (występującym u rasy kaukaskiej), o włosach rudych lub blond i bardzo jasnej karnacji skóry, ze skłonnością do oparzeń słonecznych [10].

Chociaż raki skóry u ludzi o ciemnej karnacji pojawiają się rzadko, może to wynikać z prostego faktu wysokiej zachorowalności i śmiertelności tej grupy związanej z innymi chorobami, np. pasożytniczymi, szerzącymi się w państwach rozwijających się o klimacie tropikalnym. Co więcej, chociaż raki podstawniokomórkowe rozwijają się w skórze ekspozowanej na promieniowanie UV, to zarówno rak kolczystokomórkowy, jak i czerniak skóry przyjmujący najczęściej postać czerniaka akralnego (ang. *acral lentigo melanoma* – ALM) pojawiają się sporadycznie na skórze nienapromieniowywanej (np. na podszwach stóp) czy błonie śluzowej jamy ustnej [11].

Głównym, choć nie jedynym składnikiem promieniowania słonecznego, potencjalnie odpowiedzialnym za przypadki czerniaka jest promieniowanie nadfioletowe (ultrafioletowe, UV) o falach krótszych niż światło widzialne. Wzrost udziału promieniowania krótkofalowego w widmie promieniowania słonecznego docierającego do powierzchni Ziemi w związku z degeneracją ozonosfery (tzw. dziurą ozonową) byłby logicznym wytłumaczeniem wzrostu zagrożenia ze strony czerniaka. Dlatego obecnie wszelkie informacje o korelacji między UV a powstawaniem czerniaka pochodzące z badań eksperymentalnych, zwłaszcza w układach *in vivo*, stają się cenne i pożądane.

Skóra i słońce – mechanizm kancerogennego działania promieniowania nadfioletowego

Widmo elektromagnetycznego promieniowania słonecznego docierające do Ziemi dzieli się na 3 główne zakresy:

- promieniowanie UV (100–400 nm),
- światło widzialne (400–800 nm),
- podczerwień (promieniowanie cieplne, 800 nm–100 µm).

W obrębie ultrafioletu wyróżnia się 3 pasma:

- UVA (tzw. bliski nadfiolet – 320–400 nm),
 - UVB (tzw. promieniowanie Dorno – 280–320 nm),
 - UVC (200–280 nm)
- oraz dodatkowo

- tzw. promieniowanie Schumanna (poniżej 200 nm).

To ostatnie jest m.in. intensywnie pochłaniane przez tlen i odpowiada za fotoutlenianie azotu w górnych warstwach atmosfery. Dzięki ochronnej roli atmosfery ziemskiej, a przede wszystkim jej warstwie ozonowej, do powierzchni Ziemi dociera jedynie UVA i część UVB – powyżej 300 nm [12].

Należy pamiętać, że ogólna ilość padającego na powierzchnię skóry promieniowania słonecznego zależy od pory roku i dnia, szerokości geograficznej, wysokości nad poziomem morza i pogody (stopień zachmurzenia, wiatr), jak również od sposobu ubrania oraz miejsca pobytu (na terenie o pokryciu odbijającym promieniowanie – np. wodą, śniegiem lub pochłaniającym UV – np. w lesie).

Promieniowanie słoneczne docierające do powierzchni Ziemi działa na zwierzęta i człowieka zarówno korzystnie, jak i szkodliwie. Niektóre jego składniki działają również przeciwbakteryjnie, a niedobór światła słonecznego jest czynnikiem odpowiedzialnym za sezonowe zaburzenie afektywne (ang. *seasonal affective disorder* – SAD) [13, 14]. Mimo to chroniczna ekspozycja na promieniowanie słoneczne często prowadzi do stanów patologicznych, przedwczesnego starzenia się skóry, a nawet do zmian nowotworowych. Samo UVA najprawdopodobniej jest głównym, ale niewystarczającym zakresem UV odpowiedzialnym za opalanie się, czyli indukowaną światłem syntezę melaniny w naskórku. Niewątpliwie jednak promieniowanie to wywołuje przyspieszone starzenie się (tzw. fotostarzenie się) skóry [15, 16].

Promieniowanie poniżej 300 nm jest szczególnie niebezpieczne, ponieważ w tym zakresie znajdują się maksima pochłaniania najważniejszych chromoforów układów biologicznych. Promieniowanie to odpowiedzialne jest m.in. za efekt bakteriocydowy, przez co wykorzystywane jest do powierzchniowego wyjaławiania, np. sal operacyjnych. UVB wywołuje rumień skóry, ale odpowiada także za efekt antyrachityczny (przeciwrzywicy) przez fotoprodukcję witaminy D₃ w skórze [17]. Pod wpływem UVB z 7-dehydrocholesterolu (7-DHC) w skórze powstaje prowitamina D₃, która pod wpływem ciepła ulega izomeryzacji do cholekalcyferolu (witamina D₃). Ta, uwalniana do krwi, ulega dalszemu metabolizmowi w wątrobie i nerkach, pełniąc jednocześnie funkcję hormonalną jako regulator metabolizmu wapnia w organizmie [18]. Promieniowanie z zakresu UVB pochłaniane jest głównie przez kwasy nukleinowe (DNA i RNA, A_{max} 260 nm) i białka (A_{max} 280 nm). Absorpcja fotonów UVB, głównie przez komórki naskórka, prowadzi do powstania cyklobutanowych dimerów pirymidynowych (CPD, ok. 60–70%) lub 6,4-fotoproduktów (6,4-FP, ok. 30–70%), których obecność w DNA aktywuje system naprawy uszkodzonego DNA. Powstające mutacje są zarówno wynikiem niskiej aktywności polimeraz, jak i dezaminacji cytozyny do uracylu, co w efekcie prowadzi do mutacji charakterystycznych dla UV – tranzykcji C → T lub CC → TT. Uszkodzenia DNA, które w porę nie zostaną naprawione i ulegną akumulacji (a zmutowane w ten sposób komórki – niekontrolowanej proliferacji), mogą zapoczątkować proces nowotworzenia. Tak się dzieje również w przypadku, gdy uszkodzeniu ulegnie gen supresorowy. Najczęstszym takim uszkodzeniem wywołanym przez promieniowanie UVB jest mutacja w obrębie genu supresorowego *p53*. Do nowotworów skóry wywołanych bezpośrednio promieniowaniem słonecznym, głównie komponentą UVB, należą przede wszystkim raki skóry, w tym podstawniokomórkowy i kolczystokomórkowy. W obu tych rakach stwierdza się mutacje genu *p53*, ale co ciekawe, rozwój choroby koreluje z intensywnością ekspozycji na UV [19].

Natomiast fotony UVA penetrują skórę znacznie głębiej. Wzbudzając różnego rodzaju chromofory (nukleotydy – koenzymy łańcucha oddechowego, lipopigmenty, hemoglobinę) obecne w komórce, prowadzą do produkcji reaktywnych form tlenu, które uszkadzają jej struktury i w większych dawkach działają cytotoksycznie. Docierając do skóry właściwej i naczyń krwionośnych, inicjują tam reakcje chemiczne zachodzące z udziałem tlenu, wymienionych wcześniej chromoforów oraz kolagenu i elastyny tworzących wyściółkę skóry – przyczyniają się w ten sposób do jej starzenia [12, 20].

Molekularne mechanizmy indukcji czerniaka ze szczególnym uwzględnieniem mechanizmów związanych z działaniem UV

Ostatnio opublikowano liczne prace przeglądowe, w których opisano w szczegółach genetykę czerniaka [21, 22]. Poniżej omówiono najważniejsze molekularne mechanizmy indukcji czerniaka przez ultrafiolet. Sekwencję wydarzeń wywołanych tym promieniowaniem na poziomie szlaków sygnałowych komórki przedstawiono również na ryc. 1.

Pod wpływem promieniowania UV, przez tworzenie dimerów pirymidyn – dimerów tymidynowych lub tyminy z cytozyną i 6,4-fotoproduktów dochodzi do uszkodzenia DNA

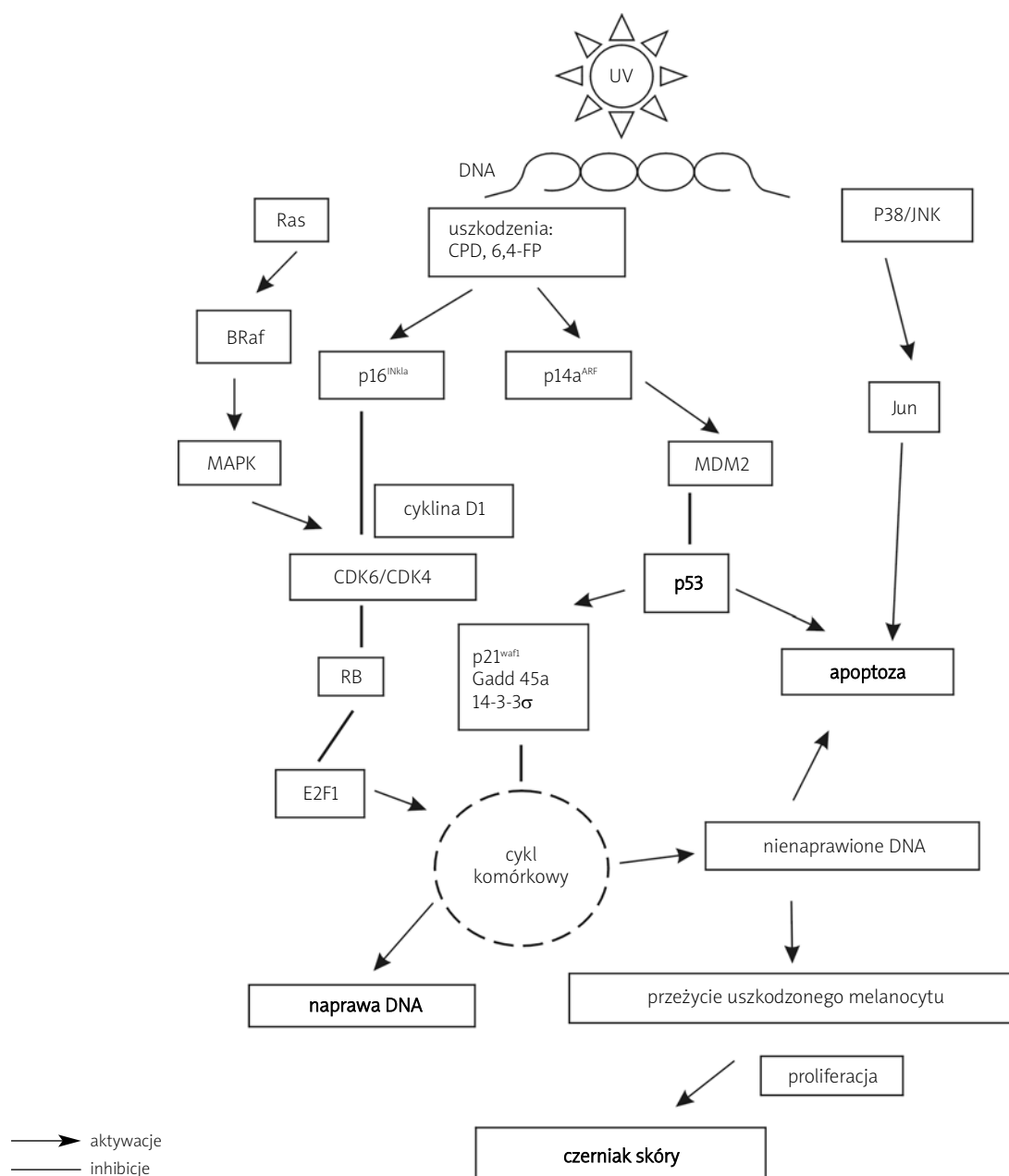
Tabela 1. Fototypy wg Fitzpatricka
Table 1. Fitzpatrick skin phototypes

Fototyp	Kolor skóry	Wrażliwość na oparzenie słoneczne i zdolność opalania	Wrażliwość na raka skóry
1	biały	zawsze ulega oparzeniom, nigdy się nie opala	wysoka
2	biały	łatwo ulega oparzeniom, rzadko się opala	wysoka
3	biały	sporadycznie ulega oparzeniom, stopniowo opala się na lekki brąz	średnia
4	oliwkowy	w minimalnym stopniu ulega oparzeniom, zawsze się opala	niska
5	brązowy	rzadko ulega oparzeniom, zawsze opala się na ciemny brąz	bardzo niska
6	czarny	nigdy nie ulega oparzeniom	bardzo niska

komórek naskórka. Jeśli powstające fotodimery po napromieniowaniu UV są bardzo liczne i nie zostaną w porę naprawione, to uszkodzone DNA wchodzi w następny cykl replikacji. Nieusunięte CPD i 6,4-FP stanowią ślady (ang. *footprints*) bezpośredniego działania UV, a wykrycie ich obecności w tkance nowotworowej w *locus* danego genu świadczy, że geny te są bezpośrednio zaangażowane w proces fotokancerogenezy [23].

Kumulacja uszkodzeń DNA wywołanych promieniowaniem UV działa mutagennie w sposób złożony, z jednej strony uszkadzając szlaki prowadzące do apoptozy uszkodzonych komórek, a z drugiej promując proliferację zmienionych, niedojrzałych komórek (ryc. 1.).

U ponad 50% czerniaków ludzkich zaobserwowano utratę supresorowych funkcji genu *INK4a/ARF* [24] będącego regulatorem cyklu komórkowego, a w liniach komórkowych wywodzących się z czerniaka aż 90% mutacji występuje w obrębie tego genu [25]. Mutacje w obrębie genów szlaku p16 (CDKN2a)-CDK4-Rb i ARF-HDM2-p53 melanocytów mogą przyczynić się do utraty ich funkcji genów supresorowych. Gen *CDKN2a* (kinazy cyklinozależnej typu drugiego) znajduje się na chromosomie 9p21. W tym obszarze zlokalizowane są 2 geny supresorowe – *INK4b* (inhibitor kinazy cyklinozależnej 4b) i *INK4a/ARF* (inhibitor kinazy cyklinozależnej 4 o alternatywnej ramce odczytu) – kodujące białka p16^{INK4a} i p14^{ARF} (u myszy p19^{ARF}). Białko p16^{INK4a} jest inhibitorem kinaz cyklinozależnych (CDK4, CDK6), które stanowi krytyczny punkt kontrolny umożliwiający komórce przejście z fazy spoczynku G1 do fazy syntezy S poprzedzającej podział mitotyczny komórki. Zatrzymanie komórki w fazie G1 jest konieczne do przeprowadzenia przez nią naprawy DNA, zanim nastąpi faza S (syntezy DNA). Białko p16 przyłączając się między CDK4 lub CDK6 a cyklina D1, hamuje funkcje tych kinaz. W następstwie dochodzi do inhibicji fosforylacji białka pRB (retinoblastoma – białko jądrowe będące regulatorem



Ryc. 1. Molekularne mechanizmy indukcji czerniaka przez UV
Fig. 1. Molecular mechanisms of malignant melanoma induction by UV

cyklu komórkowego), które w konsekwencji pozostaje aktywne i wiąże uwolnione białko inicjujące transkrypcję E2F1 w kompleks transkrypcyjny, dezaktywuje go, uniemożliwiając tym samym przejście komórki do fazy S. W wyniku uszkodzenia genu *p16^{INK4A}*, białko Rb pozostaje nieaktywne, a komórki w sposób niekontrolowany przechodzą przez punkt kontrolny i rozpoczynają podział [21, 22].

Natomiast białko *p14^{ARF}*, przez wiązanie białka MDM2 (*Mouse Double Minute 2*), bierze udział w degradacji białka p53 i zwiększa jego aktywność. Oba białka regulują punkty krytyczne dla cyklu komórkowego i wejścia komórki w apoptozę. Produkt genu supresorowego – białko p53 prowadzi do zatrzymania komórek w fazie G1 cyklu komórko-

wego poprzez białko p21 (*p21^{WAF1}*). Białko *p21^{WAF1}* jako inhibitor pełni co najmniej 2 odrębne funkcje, łącząc się ze swoim inhibitorem cyklinozależną kinazą (CDK) lub jądrowym antygenem komórek proliferujących (PCNA; dodatkowe białko polimerazy DNA δ), hamuje funkcje enzymu w replikacji DNA i tym samym naprawę przez system NER [26]. Wśród genów, których transkrypcja zostaje pobudzona, znajduje się gen kodujący białko *p21^{WAF1/CIP1}* (CDKN1), inhibitor kinaz cyklinozależnych, kluczowy dla zahamowania wejścia komórki w fazę S.

W badaniach Medrano i wsp. [27] wykazano, że naświetlanie ludzkich melanocytów *in vitro* promieniowaniem UVB zatrzymuje je w fazie G1, co jest związane z wydłużoną eks-

presją p53 i p21^{WAF1}. Okazuje się, że komórki mogą być zatrzymane również w drugiej fazie spoczynkowej cyklu komórkowego – G2. Mechanizm ten związany jest z kilkoma p53-zależnymi czynnikami, takimi jak 14-3-3σ i gen *Gadd45* (ang. *growth-arrest and DNA damage-inducible gene*) [28, 29]. Ciekawe, że nadekspresja *Gadd45* w wyniku promieniowania UV przebiega w sposób niezależny od p53 przez czynniki transkrypcyjne, takie jak *Oct-1* i *NF-YA* [30]. Niezależne od p53, zatrzymanie w G2 w odpowiedzi na UV obejmuje również blok p38-zależnych kinaz aktywowanych mitotycznym kompleksem Cdk przez fosfatazę Cdc25 [31–34]. Wyniki badań na hodowlach skóry potwierdziły, że zarówno melanocyty, jak i keratynocyty wchodzą w fazę G2 po napromieniowaniu UV dawką mniejszą niż 1 SED (z ang. *standard erythral dose*, tj. ok. 0,1 kJ/m²) [33].

Ponadto UV może indukować c-jun (kompleks białka c-fos i c-jun tworzy czynnik transkrypcyjny AP-1), ale aktywacja N-końcowej kinazy c-jun (JNK) przez kinazy białkowe aktywowane mitogenami (MAP) pojawia się raczej jako konsekwencja uszkodzenia błony komórkowej niż komórkowego DNA. Ostatnio wykazano, że c-jun promuje ponowne wejście mysich fibroblastów w cykl komórkowy przez zatrzymanie asocjacji p53 z promotorem p21^{WAF1} [35]. Badania te sugerują istotną rolę c-jun w uwalnianiu komórek z G1 po kompletnej naprawie DNA. Nie jest jednak jasne, czy ten sam mechanizm odnosi się do dojrzałych melanocytów, które proliferują znacznie wolniej niż fibroblasty.

U chorych na czerniaka skóry znaleziono również mutacje w obrębie onkogenów *N-RAS* i *B-RAF* [36, 37]. Gen *B-RAF* domeny kinazy serynowo-treoninowej jest kluczowym składnikiem ścieżki sygnałowej kinaz MAPK. Mimo iż mutacje w obrębie genu *B-RAF* są powszechne w czerniaku oraz znamionach barwnikowych, to rola promieniowania UV w uszkodzeniach *B-RAF* wciąż nie jest do końca jasna. Około 90% tych mutacji wywołanych jest przez transwersję T → A nukleotydu 1796, a nie przez typowe dla UV transycje CC → TT lub C → T. Na związek między mutacjami *B-RAF* a ekspozycją na promieniowanie UV wskazuje fakt, że mutacje te dość często występują w zmianach i nowotworach w skórze napromieniowanej w przeciwieństwie do obszarów chronionych. Jednak w czerniaku rozwijającym się w skórze wystawionej na wyjątkowo wysokie dawki UV mutacja w obrębie genu *B-RAF* jest niezwykle rzadka, co dodatkowo komplikuje wyjaśnienie tego związku [38]. W badaniach Bauer i wsp. [39] wykazano, że nowotwory rozwijające się zarówno z wrodzonych znamion melanocytowych, jak i tych pojawiających się później cechuje mutacja w obrębie *N-RAS* (aż 81%), a nie *B-RAF*, jak ma to miejsce w przypadku znamion ulegających transformacji nowotworowej w napromieniowanej skórze [39].

Ponadto, jedną z cech czerniaka, odróżniających go od melanocytów prawidłowych, jest też zmiana ekspresji cząsteczek adhezyjnych – kadheryn, które uczestniczą w oddziaływaniach między komórkami, jak np. utrata kadheryny nabłonkowej (E-kadheryny) i nadekspresja kadheryny neuronalnej (N-kadheryny) [40], co sprzyja metastazom. Tymczasem w badaniach *in vitro* wykazano, że promieniowanie UVB indukuje sekrecję endoteliny 1 (ET-1) przez keratynocyty, która wpływa na melanocyty i komórki ludzkiego czerniaka linii SKMEL, obniżając produkcję E-kadheryny [41].

Naprawa DNA uszkodzonego działaniem promieniowania UV

Od dawna wiadomo, że promieniowanie z zakresu UVB (280–300 nm) prowadzi do uszkodzeń DNA i mutacji. Uszkodzenia DNA keratynocytów, w tym CPD, odgrywają kluczową rolę w indukcji stanu zapalnego skóry przez UV [42]. Ochrona przeciw uszkodzeniom i naprawa powinny zatem stanowić o skuteczności w zapobieganiu chronicznym stanom zapalnym i nowotworzeniu. CPD i 6,4-FP powstają na skutek fizycznego działania UV na DNA keratynocytów. Reakcje te zachodzą natychmiastowo i jeśli uszkodzenia nie zostaną naprawione, to uszkodzone komórki wchodzą w apoptozę, a następnie zostają sfagocytowane przez otaczające keratynocyty i makrofagi migrujące ze skóry właściwej. Procesy reparacji uszkodzeń wywołanych przez promieniowanie UV to tzw. fotoreaktywacja przez fotoliazę. Enzym ten, pod wpływem światła widzialnego z udziałem chromoforów flawoproteinowych (FADH2), przeprowadza reakcje rozłączania fotodimerów z powrotem na monomery i usuwa pierwotne uszkodzenie DNA [43]. Drugi polega na naprawie przez wycinanie (opisane poniżej). Przy długotrwałej ekspozycji lub wysokich dawkach UV dochodzi do masowego uszkodzenia nie tylko keratynocytów, ale i innych komórek występujących w głębszych warstwach skóry, czemu towarzyszy wydzielanie znacznych ilości cytokin prozapalnych. Jest to sygnał stymulujący reakcję zapalną, w wyniku której leukocyty wydostają się z naczyń krwionośnych do miejsca, w którym występują uszkodzone komórki. Jednocześnie lokalnie zwiększa się przepuszczalność naczyń dla białek osocza. Towarzyszy temu zespół objawów, takich jak zaczerwienienie, obrzęk czy ból. Stan ten, nazywany potocznie *oparzeniem słonecznym*, jest przejściowy i zanika po paru dniach, o ile skóra nie zostanie ponownie poddana działaniu UV [42]. Jednak u osób z defektami w genach odpowiedzialnych za mechanizmy naprawy DNA obserwuje się kumulację uszkodzeń wywołanych promowaniem UV i utrzymujący się rumień. Uszkodzenia DNA, które w porę nie zostaną naprawione, są przyczyną nowotworzenia. Dlatego też, obok procesów ekranowania promieniowania, naprawa uszkodzeń zainicjowanych przez UV jest kluczowym procesem chroniącym przed powstawaniem nowotworów skóry, w tym czerniaka [44, 45].

Komórki skóry wyposażone są w wiele różnych systemów naprawczych uszkodzonego DNA, działających w zależności od długości fal wywołujących uszkodzenie. Do naprawy uszkodzeń wywołanych promieniowaniem UVA (320–400 nm) zaangażowany jest system BER (ang. *base excision repair* – naprawa przez wycięcie zasad), a w usuwaniu dimerów cyklobutanowych i 6,4-fotoproduktów będących skutkiem promieniowania UVB bierze udział system naprawy przez wycinanie nukleotydów (ang. *nucleotide excision repair* – NER) [45]. Szczegóły funkcjonowania systemu NER poznano u bakterii, ale wykazuje on wiele podobieństw do systemu eukariotycznego. W zależności od rodzaju uszkodzenia i tego, jak szybko musi nastąpić naprawa, system NER wybiera jedną z dwóch możliwych dróg – naprawę sprzężoną z transkrypcją (ang. *transcription-coupled repair* – TCR) lub naprawę globalną genomu (ang. *global genome repair pathway* – GGR). TCR odpowiada za szybką naprawę rejonów DNA aktywnych transkrypcyjnie i dotyczy nici DNA

służącej jako matryca dla transkrypcji. Natomiast w wyniku aktywacji GGR z mniejszą szybkością są dokonywane zmiany większych fragmentów genomu. Obie drogi różnią się już w początkowym etapie, w którym dochodzi do rozpoznania uszkodzenia [46]. Badania Islas i Hanawalt [47] na ludzkiej linii komórkowej HL-60 o różnym stopniu zróżnicowania, związanym z różną ekspresją genu *MYC* wskazują, że w obrębie tego protoonkogenu istnieje naprawa zależna od kontekstu (ang. *context-dependent-rate*). Gen *MYC* należy do tzw. protoonkogenów, czyli genów znajdujących się w materiale genetycznym każdej zdrowej komórki i kodujących białka uczestniczące w regulacji podziałów komórki. Wadliwie działające na skutek mutacji, nadmiernie aktywne protoonkogeny, zwane wtedy onkogenami, powodują niekontrolowane podziały komórkowe, co ma miejsce w przypadku komórek nowotworowych. Islas i Hanawalt wykazali, że w ciągu 18 godz. od zakończenia naświetlania UV, w zróżnicowanych komórkach HL-60 tylko 15% dimerów pirymidynowych (CPD) zostaje usuniętych w obrębie nieaktywnego transkrypcyjnie genu *MYC*, natomiast aż 56% analogicznych uszkodzeń zostaje usuniętych, gdy gen *MYC* ulegał aktywnej transkrypcji [47]. Tornaletti i wsp. [48] w badaniach na ludzkich fibroblastach skóry zaobserwowali nie tylko różnice w naprawie uszkodzeń DNA w wyniku promieniowania UV w 2 niciach genu *TP53* kodującego białko p53, ale również różną szybkość w naprawie niektórych specyficznych rejonów w obrębie tego samego genu. Wyniki tych badań sugerują, że poszczególne mutacje powstające w ważnych miejscach w obrębie ważnego genu supresorowego usuwane są z różną szybkością.

W przypadku naprawy typu GGR rozpoznanie uszkodzenia rejonu DNA zachodzi poprzez kompleks białkowy XPC-hHR23B [49]. XPC (XP – łac. *Xeroderma pigmentosum*) reprezentuje jedną z 7 komplementarnych grup białek od XPA do XPG, które są konieczne do prawidłowego działania systemu NER. System naprawy angażuje geny XPB, XPD i kilka innych. Dwa z nich to *CSA* i *CSB* (ich mutacje są przyczyną wrodzonej wady genetycznej zwanej zespołem Cockayne'a (ang. *Cockayne's Syndrom* – CS). Produkt genu *CSB* tworzy w jądrze komórkowym kompleks z polimerazą II RNA, która bierze udział w syntezie mRNA i jest ogniwem molekularnym łączącym transkrypcję z naprawą DNA. Jeżeli polimeraza RNA, posuwając się wzdłuż matrycy, napotka uszkodzoną zasadę, może za pomocą białek *CSA* i *CSB* dokonać błyskawicznej naprawy, zanim zakończy transkrypcję genu. Jeżeli jednak do naprawy nie dojdzie, czego najczęstszą przyczyną jest mutacja w obrębie genów odpowiedzialnych za proces naprawy, to prowadzi to do choroby. Spośród chorób genetycznych wywołanych mutacją genów związanych z naprawą DNA wymienić należy zespół skóry pergaminowatej barwnikowej (łac. *Xeroderma pigmentosum* – XP), zespół Cockayne'a (CS) i trichotiodystrofię (ang. *trichothiodystrophy* – TTD). Za wszystkie te choroby odpowiedzialne są mutacje recesywne niesprężone z płcią.

Jedynie chorzy na XP są nadwrażliwi na UV [45], co przejawia się 1000-krotnie wyższą podatnością na pojawienie się nowotworu skóry, w tym czerniaka [50]. Jest to niepodważalny dowód istnienia związku między promieniowaniem UV a czerniakiem skóry. Chorzy charakteryzują się brakiem sytemu naprawczego GGR i TCR z wyjątkiem XPC, gdzie brak

tylko tego pierwszego. U chorych już we wczesnym dzieciństwie pojawiają się w miejscach ekspozycji na słońce bardzo liczne piegi, znamiona barwnikowe, odbarwienia, w późniejszym okresie zmiany przednowotworowe typu rogowacenia słonecznego, a następnie różnego rodzaju raki skóry i czerniaki, które usuwa się chirurgicznie, ponieważ nie ma innego skutecznego sposobu leczenia. Takie osoby skazane są już od wczesnego dzieciństwa na specjalną ochronę przed promieniami słonecznymi. Co ciekawe, w przypadku CS, mimo iż wywołuje go brak tylko jednego, prawidłowego genu zapewniającego naprawę typu TCR, występuje paradoksalnie więcej objawów klinicznych niż w przypadku XP. CS charakteryzuje się przedwczesnym starzeniem nie tylko skóry, ale i innych organów, mikrocefalią, niedorozwojem umysłowym, niedorozwojem narządów płciowych, niskim wzrostem, a w obrębie skóry ekspozowanej na światło – złuszczać się rumieniem [51]. U ludzi CS jest związany z brakiem 1 z 2 genów w obrębie CS – *CSA* (25% przypadków) i *CSB* (75%). Myszy z defektem w genie *CSB* (*CSB*^{-/-}) posiadają dodatkowy kodon nonsensowny w obrębie genu *CSB/ERCC6*, przez co w kodowanym białku brakuje jego funkcjonalnych domen, podobnie jak w przypadku mutacji K₃₃₇→stop u pacjentów z *CSB* [52]. Myszy *CSB*^{-/-} wykazują podobną charakterystykę do pacjentów z *CSB* z wyjątkiem zwiększonej nadwrażliwości na działanie UV [52, 53]. Dla TTD typowymi cechami są tzw. rybia skóra, kruche, łamliwe włosy i paznokcie, co jest związane ze zmniejszoną ilością białek bogatych w cysteinę, a także katarakta, fotowrażliwość i opóźnienie w rozwoju [51].

Dotychczas nie wykazano związku między schorzeniami związanymi z brakiem naprawy DNA a czerniakiem skóry indukowanym przez UV w modelach zwierzęcych.

Fototoksyczność i fotoprotekcyjna aktywność melanin

Czerniak złośliwy należy do najbardziej złośliwych nowotworów i mimo że współczynnik zachorowań wynosi średnio 4–12 na 100 tys. mieszkańców, to u 80% z nich choroba kończy się zgonem [2]. Najczęstszym umiejscowieniem czerniaka jest skóra (90%), ale może on także powstawać np. w obrębie błony śluzowej przewodu pokarmowego oraz w gałce ocznej, a nawet w mózgu [54]. Czerniak pochodzi ze stransformowanych nowotworowo komórek barwnikowych – melanocytów i może rozwinąć się ze znamion barwnikowych lub *de novo* w prawidłowej skórze. Znamiona barwnikowe powstają na skutek nieprawidłowości rozwojowych skóry, które ujawniają się w różnym okresie życia. Wspólną cechą znamienia i czerniaka oprócz pochodzenia histologicznego jest to, że powstają najczęściej w naskórku i mają tendencję do naciekania w głąb skóry. Natomiast najważniejszym wyróżnikiem melanocytów spośród innych komórek pochodzących z grzebienia nerwowego jest zdolność do syntezy melaniny [55]. Cechę tę dojrzałe melanocyty dzielą z komórkami czerniaka, z wyjątkiem czerniaków amelanotycznych, które wtórnie utraciły zdolność do syntezy melaniny [56–58].

W prawidłowych melanocytach melanina jest transportowana w postaci specyficznych organelli komórkowych – melanosomów poprzez melanocytarne wypustki dendrytyczne i przekazywana keratynocytom poprzez tzw. synap-

sę pigmentacyjną [59]. Wszystkie keratynocyty kontaktujące się w ten sposób z melanocytem tworzą tzw. skórą jednostkę melaninową (ok. 30–35 keratynocytów na 1 melanocyt) [60]. Barwa skóry ludzkiej zależy od liczby ziaren melaniny – melanosomów w keratynocytach i od ich degradacji. Melanosomy u ludzi rasy kaukaskiej występują tylko w keratynocytach przylegających do melanocytów. W komórkach dalej położonych oraz w warstwie rogowej naskórka w wyniku postępującej degradacji melanosomów melanina tworzy tzw. *pył (kurz) melaninowy* (ang. *melanin dust*). U rasy negroidalnej melanosomy są większe i występują w większych skupieniach, przez co są mniej podatne na degradację i występują we wszystkich keratynocytach [61, 62].

Pierwotny, biologiczny cel produkcji melaniny jest przedmiotem licznych hipotez i dyskusji [63, 64]. Ponieważ polimer ten może powstawać spontanicznie na drodze oksydacyjnej polimeryzacji związków fenolowych i aminokwasów aromatycznych, a także w związku z powszechnością występowania różnych biochemicznych mechanizmów melanogenezy, mógł on być początkowo ubocznym efektem pojawienia się w atmosferze tlenu. Zdolność do aktywnej syntezy melaniny została następnie podchwyciona niezależnie przez różne organizmy, początkowo jako możliwość modyfikacji środowiska zewnątrzkomórkowego, a następnie jako szereg wtórnych funkcji melaniny. Obok modyfikacji ubarwienia powierzchni ciała jedną z najważniejszych takich funkcji w skórze jest zdolność do ekranowania promieniowania słonecznego i ochrona przed powstającymi w wyniku jego działania aktywnymi formami tlenu i azotu. Nie chodzi tu tylko o ochronę przed kancerogennym działaniem UV, ale o takie zjawiska, jak np. zachowanie równowagi między zachodzącą w skórze fotoprodukcją witaminy D₃ a fotodegradacją kwasu foliowego [65, 66].

Melanina w skórze może pełnić funkcję nie tylko fotoprotektora, ale i fotouczulacza (fotosensybilizatora), odpowiadającego za fotostarzenie się skóry i fotokancerogenezę. Tym niemniej, badania *in vitro* mysich melanocytów linii melan A i melan C, z których pierwsza jest linią upigmentowaną, a druga albinotyczną, nie wykazały, aby obecność melaniny *in situ* chroniła przed uszkodzeniem DNA i śmiercią komórek [67]. Nie udowodniono również, aby obecna w skórze ludzkiej melanina chroniła przed uszkodzeniami DNA, możliwe, że to szybkość naprawy odgrywa znaczącą rolę w fotoprotekcji skóry [68].

Jeden z postulowanych mechanizmów indukcji pigmentacji skóry (opalenia) pod wpływem UV polega na aktywacji syntazy tlenu azotu typu neuronalnego (NOS 1) w keratynocytach i aktywacji cyklicznej guanylowej (GC) za pośrednictwem produkowanego przez NOS 1 NO w komórkach docelowych – melanocytach [69, 70]. Wciąż nie do końca wiadomo, który z kofaktorów NOS (mononukleotyd flawinowy – FMN, dinukleotyd flawinoadeninowy – FAD, fosforan dinukleotydu nikotynamidoadeninowego – NADP, tetrahydrobiopteryna – BH₄, inne?) jest pierwotnym fotoreceptorem w keratynocytach [69]. Podniesiony poziom 3',5'-cyklicznego guanozynomonofosforanu (cGMP) jest natomiast dla melanocytów wtórnym sygnałem do aktywacji szlaku sygnałowego kinazy G i stymulacji melanogenezy [69, 70]. W tym ujęciu na podkreślenie zasługuje obustronne współdziałanie między keratynocytami indukującymi melanogenezę

u melanocytów i tymi ostatnimi, wytwarzającymi w odpowiedzi melaninę dla keratynocytów. Ostatnio coraz silniej udokumentowana staje się inna hipoteza – że to produkty fotodegradacji DNA pod wpływem UV (oligonukleotydy, takie jak np. dinukleotyd tymidyny – pTT) bezpośrednio stymulują melanogenezę [71]. Bardzo atrakcyjna jest również koncepcja dotycząca neurogennej stymulacji melanocytów (przynajmniej tych wchodzących w skład anagenowego mieszków włosowego u myszy) przez cholinergiczne receptory muskarynowe [72].

Ciąg reakcji biochemicznych prowadzący do powstania melaniny polega na stopniowej hydroksylacji pierścienia aromatycznego tyrozyny i polimeryzacji powstających związków chinonowych do pigmentu. Jeżeli w procesie bierze również udział cysteina i/lub glutation, powstająca melanina ma zabarwienie czerwone lub żółte, dlatego określa się ją mianem feomelaniny. W przeciwnym wypadku powstaje czarna lub brunatna eumelanina [73–75].

Produkcja i akumulacja melanin w komórkach czerniaka jest bardzo ważnym czynnikiem, warunkującym skuteczność terapii, choć i tu zdania na temat faktycznej roli melaniny są podzielone [76]. Przede wszystkim melanina jest powszechnie uważana za substancję skutecznie ekranującą promieniowanie świetlne [77, 78] – czynnik terapii fotodynamicznej [79] i jonizujące – czynnik radioterapeutyczny [80, 81]. Po drugie, melanina może akumulować niektóre leki i cytostatyki, potencjalnie osłabiając skuteczność chemioterapii [82, 83]. Po trzecie, synteza melaniny może prowadzić do istotnej hipoksji w komórkach czerniaka, osłabiając tym samym skutki radioterapii [81]. Z drugiej jednak strony zarówno produkty pośrednie melanogenezy [84, 85], jak i produkty degradacji melaniny, w tym fotodegradacji (zwłaszcza feomelaniny), są cytotoksyczne [86, 87]. Owa cytotoksyczność może się obrócić jednak zarówno przeciwko komórkom nowotworowym, jak i nasilić stopień uszkodzenia materiału genetycznego komórek, zwiększając ich złośliwość czy też obniżając aktywność komórek immunologicznych organizmu, a zatem i możliwość wykorzystania immanentnych mechanizmów obrony przeciwnowotworowej [88]. Na przykład nowotwory mieszków włosowego są indukowane szczególnie często w anagenie [89], czyli w tej fazie cyklu włosowego, w której tempo proliferacji keratynocytów przekracza tempo podziałów jakichkolwiek innych znanych komórek organizmu dorosłego [90], ale jednocześnie będącej fazą bardzo intensywnego różnicowania anatomicznego i histologicznego mieszków włosowego, w tym najintensywniejszej melanogenezy [91]. Melanogeneza jest jednak symptomem różnicowania komórek, a zatem procesu przeciwnego do progresji nowotworu – rzadko opisywane przypadki czerniaka bezbarwnikowego (ang. *amelanotic melanoma*) należą do najcięższych postaci tego nowotworu [92, 93]. Skoro zatem synteza melaniny jest raczej czynnikiem niesprzyjającym skuteczności terapii czerniaka, to podatność pigmentowanego czerniaka na działanie czynników terapeutycznych można podnieść przez inhibicję melanogenezy lub wpływając na metabolizm jego komórek w sposób, który taką inhibicję naśladuje (np. podnosząc wewnątrzkomórkowe stężenie tlenu) [88, 94], przy jednoczesnej stymulacji procesów różnicowania [95, 96] i/lub starzenia komórek [97, 98].

Modele zwierzęce w badaniach wpływu UV na indukcję czerniaka

Istnieje wiele czerniaków zwierzęcych, używanych jako modele w badaniach nad tym typem nowotworu, wśród których należy wymienić czerniaki muszki owocowej *Drosophila melanogaster* [99], ryb pięknickowatych z rodzaju *Xiphophorus* [100, 101], kóz angorskich [102] i innych zwierząt domowych [103], myszokoczek [58, 104], chomików syryjskich [56, 57], a przede wszystkim liczne linie mysie, a zwłaszcza B16 [105] i Cloudman S91 [106]. Jednak żaden z tych modeli w wystarczającym stopniu nie odpowiada ludzkiemu czerniakowi skóry wywoływanemu przez naświetlanie promieniowaniem UV ani etiologicznie, ani w obrazie histopatologicznym [107]. Ponieważ u gryzoni melanocyty skórne występują prawie wyłącznie w obrębie mieszków włosowych [108], nadając barwę włosom, do niedawna bardzo trudno było wykazać eksperymentalnie związek między pigmentacją skóry a fotoindukowanym powstawaniem nowotworów tego narządu. Wszelkie mniemania na ten temat były wysnuwane pośrednio, na podstawie korelacji między zakładaną ekspozycją na słońce (a zatem domniemaną pochłoniętą dawką promieniowania), barwą skóry a incydentami nowotworów. Mimo wszystko najwięcej hipotez dotyczących etiologii i mechanizmu powstawania czerniaka pochodzi z badań przeprowadzonych na zwierzętach. Trudności w znalezieniu odpowiedniego modelu zwierzęcego wynikają m.in. z tego, że żaden z dotychczasowych nie łączył w sobie wszystkich cech niezbędnych, by imitować ludzkiego czerniaka skóry, tj. wrażliwości na promieniowanie UV, analogicznej do ludzkiego czerniaka patomorfologii cech histopatologicznych i patogenezę molekularnej oraz wystarczającej podatności na manipulacje genetyczne i immunologiczne [107].

Dopiero niedawno grupa prof. Noonan i De Fabo uzyskała model *in vivo*, w którym w wyniku naświetlania promieniowaniem UV rozwija się czerniak. Jest nim noworodek myszy transgenicznej z genem czynnika wzrostu hepatocytów/czynnikiem rozproszenia (HGF/SF z ang. *hepatocyte growth factor/scatter factor*) [109]. HGF/SF jest wielofunkcyjną cytokiną odpowiedzialną m.in. za proliferację, różnicowanie oraz migrację komórek posiadających receptor kinazy tyrozynowej c-Met, takich jak hepatocyty, melanocyty, keratynocyty i inne [110]. Mysz HGF/SF wywodzi się z albinotycznej myszy FVB, u której, tak jak u innych myszy, melanocyty są zlokalizowane jedynie w mieszkach włosowych skóry tułowia. Natomiast u myszy FVB HGF/SF rozmieszczenie i liczba melanocytów znacząco się różnią od formy wyjściowej – melanocyty znajdują się również w skórze właściwej, warstwie podstawnej naskórka i granicy skórno-naskórkowej [111]. Melanocyty tych myszy proliferują pod wpływem UV. Czerniak pojawia się u nich z wiekiem spontanicznie, bez naświetlania UV, a po 21 mies. od urodzenia ok. 15% guzów przerzutuje. Jednak taki nowotwór spontaniczny nie odpowiada histopatologicznie ludzkiej melanomie. W przeciwieństwie zarówno do noworodków szczepu dzikiego, jak i myszy dorosłych, podobny do ludzkiego czerniak rozwija się jedynie w wyniku naświetlania ultrafioletem noworodków transgenicznej myszy FVB HGF/SF i to pojedynczą dawką UV (9 kJ/m²), jaką uzyskano, stosując lampy o emisji promieniowania zawierającej 60% UVB i 40% UVA (FS40 sun-lamps). Dawka ta odpowiada 23 SED, co można osiągnąć

w naturze w ciągu 2–3 godz. w południe przy średnich szerokościach geograficznych [109, 112].

W przeciwieństwie do innych modeli, u których indukowano jedynie czerniaka typu zwierzęcego, tylko u transgenicznych myszy FVB HGF/SF pozyskano czerniaka o ścisłym podobieństwie do ludzkiego typu czerniaka szerzącego się powierzchniowo (ang. *superficial spreading melanoma* – SMM) [109, 112]. Histopatologiczna analiza porównawcza w obu przypadkach wykazała we wczesnym stadium obecność pojedynczych, atypowych melanocytów rozproszonych w naskórku, a w stanie bardziej zaawansowanym naciekanie różnych warstw naskórka przez pojedyncze, proliferujące komórki czerniaka rozmieszczone wzdłuż i powyżej granicy skórno-naskórkowej oraz ich różnej wielkości gniazda o patoidalnym rozroście. Podobnie jak ludzki, ów mysz inwazyjny czerniak złośliwy charakteryzuje się nieregularnym rozrostem, asymetrią, chaotycznym rozmieszczeniem melanocytów w naskórku oraz przerzutami do węzłów limfatycznych i wątroby. Komórki czerniaka zarówno w zmianie pierwotnej, jak i przerzucie barwią się pozytywnie znanymi markerami dla melanomy – S100 i melanocytów – TRP1 [112].

Ponadto badania przeprowadzone na guzach czerniaka pochodzących od transgenicznych myszy HGF/SF naświetlanych UV w 3.–5. dniu po urodzeniu wykazały u 3 z 7 guzów utratę dwóch egzonów w obrębie genu *Ink4a/arf*, a tylko u 1 z 8 – zmiany w p53. W przypadku *c-H-ras* i *c-N-ras* nie zaobserwowano żadnych zmian. Dalsze fakty dotyczące *Ink4a/arf* w czerniaku inicjowanym UV ustalono w badaniach na zwierzętach pozbawionych tego genu. Okazało się, że jedynie w obecności genu *HGF/SF* promieniowanie UV prowadziło do rozwoju czerniaka, natomiast u myszy pozbawionych *Ink4a/arf* i heterozygot nie stwierdzono żadnego czerniaka [111].

W najnowszych badaniach de Fabo [113] na transgenicznych albinotycznych myszach HGF/SF wykazano, że czerniak skóry wywoływany jest przez promieniowanie UVB, a nie UVA. Niezmiernie ciekawym byłoby uzyskanie widma działania dla czerniaka skóry, tj. zależności między efektywnością indukcji czerniaka skóry a długością fal promieniowania, ponieważ stosowane dotąd widmo działania dla rumienia, tj. zaczerwienienia skóry, nie pokrywa się z widmem indukcji melanomy w tym modelu [113]. Jednak cytowane wyniki dotyczą myszy albinotycznej i mogą znacząco różnić się od wyników, jakie pozyskano by, używając linii upigmentowanej. Dotychczas nie ma doniesień na temat takich badań.

Ciekawy model zwierzęcy uzyskano również ze skrzyżowania pozbawionej włosów myszy Hos/Hr-1 z genem *XP* (*XPA*-/-) z również transgeniczną, czarną myszą z genem *SCF* (ang. *Stem Cell Factor*, c-kit SCF; *SCF*+/-), a pozyskane w ten sposób myszy transgeniczne (*XPA*-/-, *SCF*+/-), tj. czarne myszy pozbawione włosów, mają melanocyty również poza mieszkami włosowymi i wykazują produkcję melaniny w melanocytach oraz jej transfer do keratynocytów [114]. U osobników *XPA*-/- pojawia się wrażliwość na promieniowanie ponad 1000 razy większa niż u osobników normalnych, przejawiająca się przede wszystkim zapadalnością na nowotwory skóry. Jednak dzieje się tak jedynie, gdy myszy nie mają melanocytów w warstwie podstawnej naskórka (tj. u osobników *dzikich*, tj. *SCF*-/-). SCF jest wielofunkcyjną cytokiną uwalnianą w skórze m.in. przez keratynocyty, fibroblasty i komórki tuczne. Receptor dla SCF, zwany c-kit,

występuje na komórkach krwiotwórczych, pierwotnych komórkach zarodkowych, melanocytach i komórkach tłuszczowych. Receptor c-kit jest odpowiedzialny za docelowe umiejscowienie melanocytów w embriogenezie, odgrywa zatem kluczową rolę w fizjologii melanocytów, wpływa na melanogenezę, proliferację, migrację i przeżywalność tych komórek. Dotąd nie udało się w pełni wyjaśnić molekularnego mechanizmu transdukcji sygnału przez c-kit i regulacji specyficznej odpowiedzi komórkowej. Obserwacje Alexeev i Yoon [115] sugerują, że aktywacja c-kit w melanocytach pierwotnie odpowiada za promigracyjne sygnały, które antagonizują proliferację i melanogenezę. Co ciekawe, podczas progresji czerniaka melanocyty tracą c-kit.

Porównując zwierzęta albinotyczne (XPA^{-/-}, SCF^{-/-}) naświetlone promieniowaniem z zakresu UVB z czarnymi (XPA^{-/-}, SCF^{+/+}), udało się po raz pierwszy pokazać w sposób jednoznaczny, że melanina produkowana w skórze obniża prawdopodobieństwo powstania nowotworu skóry pod wpływem promieniowania UVB u tych fotowrażliwych mutantów [114]. Niestety, badania te, choć bezpośrednio wskazują na antynowotworową funkcję melaniny w skórze, nie odpowiadają na pytanie o protekcyjną funkcję melaniny w przypadku transformacji nowotworowych melanocytów, gdyż wśród powstających u myszy kontrolnych nowotworów skóry przeważał rak kolocystokomórkowy, brak było natomiast czerniaków.

Podsumowanie

Nauka i medycyna w walce z czerniakiem dysponują coraz doskonalszymi modelami badawczymi. Uzyskane ostatnio dzięki technikom inżynierii genetycznej zwierzęta transgeniczne posiadają szereg cech, które wykazuje skóra ludzka – obecność melanocytów w warstwie podstawnej naskórka, podatność na indukcję czerniaka promieniowaniem UV i podobieństwo cech molekularnych i histopatologicznych do czerniaków ludzkich. Mają one również tę zaletę, że okres między ekspozycją na promieniowanie UV i pojawieniem się czerniaka jest znacznie krótszy niż u człowieka. Dzięki nim, poza bezspornym udziałem promieniowania nadfioletowego jako czynnika etiologicznego czerniaka, udało się uchwycić bardzo istotną, niedostrzeganą uprzednio cechę tego nowotworu – związek między ekspozycją na UV we wczesnym dzieciństwie a powstawaniem nowotworu w wieku dojrzałym. Stanowić to może klucz do opracowania nowych metod terapeutycznych i prewencyjnych w walce z czerniakiem.

Piśmiennictwo

1. Lens MB, Dawes M. Global perspectives of contemporary epidemiological trends of cutaneous malignant melanoma. *Br J Dermatol* 2004; 150: 179-85.
2. Kycler W, Teresiak M. Czerniak skóry: aktualne możliwości leczenia w Polsce na podstawie analizy leczonych pacjentów i przeglądu literatury. *Współcz Onkol* 2006; 10: 437-48.
3. Whiteman DC, Whiteman CA, Green AC. Childhood sun exposure as a risk factor for melanoma: a systematic review of epidemiologic studies. *Cancer Causes Control* 2001; 12: 69-82.
4. Lee JA, Scotto J. Melanoma: linked temporal and latitude changes in the United States. *Cancer Causes Control* 1993; 4: 413-8.
5. Hallberg O, Johansson O. Malignant melanoma of the skin – not a sunshine story! *Med Sci Monit* 2004; 10: CR336-40.
6. Bastuji-Garin S, Diepgen TL. Cutaneous malignant melanoma, sun exposure, and sunscreen use: epidemiological evidence. *Br J Dermatol* 2002; 146 Suppl. 61: 24-30.
7. Khat M, Vail A, Parkin M, Green A. Mortality from melanoma in migrants to Australia: variation by age at arrival and duration of stay. *Am J Epidemiol* 1992; 135: 1103-13.
8. Iscovich J, Howe GR. Cancer incidence patterns (1972-91) among migrants from the Soviet Union to Israel. *Cancer Causes Control* 1998; 9: 29-36.
9. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). MMWR Morb Mortal Wkly Rep. Sunburn prevalence among adults – United States, 1999, 2003, and 2004. 2007; 56: 524-8.
10. Fitzpatrick TB. The validity and practicality of sun-reactive skin types I through VI. *Arch Dermatol* 1988; 124: 869-71.
11. Byrd-Miles K, Toombs EL, Peck GL. Skin cancer in individuals of African, Asian, Latin-American, and American-Indian descent: differences in incidence, clinical presentation, and survival compared to Caucasians. *J Drugs Dermatol* 2007; 6: 10-6.
12. Zarębska Z. Promieniowanie słoneczne – dobroczynne działanie i zagrożenia. *Kosmos* 2000; 49: 27-39.
13. Lurie SJ, Gawinski B, Pierce D, Rousseau SJ. Seasonal affective disorder. *Am Fam Physician* 2006; 74: 1521-4.
14. Murray G, Michalak EE, Levitt AJ, Levitan RD, Enns MW, Morehouse R, Lam RW. O sweet spot where art thou? Light treatment of seasonal affective disorder and the circadian time of sleep. *J Affect Disord* 2006; 90: 227-31.
15. Berneburg M, Plettenberg H, Medve-Konig K, Pfahlberg A, Gers-Barlag H, Gefeller O, Krutmann J. Induction of the photoaging-associated mitochondrial common deletion in vivo in normal human skin. *J Invest Dermatol* 2004; 122: 1277-83.
16. Krutmann J. Ultraviolet A radiation-induced biological effects in human skin: relevance for photoaging and photodermatitis. *J Dermatol Sci* 2000; 23 Suppl. 1: S22-6.
17. Trembaczowski E. Wpływ promieniowania niejonizującego na organizm żywy i niektóre zastosowania metod optycznych w medycynie. W: Podstawy Biofizyki. Podręcznik dla studentów medycyny. Piłowski A (red.). PZWL, Warszawa 1981; 375-92.
18. Osancevic A, Landin-Wilhelmsen K, Larkö O, Mellström D, Wennberg AM, Hulthén L, Krogstad AL. UVB therapy increases 25 (OH) vitamin D syntheses in postmenopausal women with psoriasis. *Photodermatol Photoimmunol Photomed* 2007; 23: 172-8.
19. Jabłońska S, Chorzelski T. Choroby skóry dla studentów medycyny i lekarzy. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 1994; 342-59.
20. Pourzand C, Tyrrell RM. Apoptosis, the role of oxidative stress and the example of solar UV radiation. *Photochem Photobiol* 1999; 70: 380-90.
21. Brudnik U, Wojas-Pelc A, Branicki W. Genetyczne uwarunkowania czerniaka. Artykuł poglądowy. *Post Dermatol Alergol* 2006; 23: 21-5.
22. Lamperska K, Przybyła A, Kaczmarek A, Leporowska E, Mackiewicz A. Podłoże genetyczne czerniaka – badania własne i przegląd piśmiennictwa. *Współcz Onkol* 2006; 10: 297-302.
23. Garin GA, Mitchell JR, Moorhouse MJ, et al. Transcriptome analysis reveals cyclobutane pyrimidine dimers as a major source of UV-induced DNA breaks. *EMBO J* 2005; 24: 3952-62.
24. Sharpless E, Chin L. The INK4a/ARF locus and melanoma. *Oncogene* 2003; 22: 3092-8.
25. Cachia AR, Indsto JO, McLaren KM, Mann GJ, Arends MJ. CDKN2A mutation and deletion status in thin and thick primary melanoma. *Clin Cancer Res* 2000; 6: 3511-5.
26. Fotadar R, Bendjennat M, Fotadar A. Functional analysis of CDK inhibitor p21WAF1. *Methods Mol Biol* 2004; 281: 55-71.
27. Medrano EE, Im S, Yang F, Abdel-Malek ZA. Ultraviolet B light induces G1 arrest in human melanocytes by prolonged inhibition of retinoblastoma protein phosphorylation associated with long-term expression of the p21Waf-1/SDI-1/Cip-1 protein. *Cancer Res* 1995; 55: 4047-52.
28. Yang Q, Manicone A, Coursen JD, Linke SP, Nagashima M, Forgues M, Wang XW. Identification of a functional domain in a GADD45-mediated G2/M checkpoint. *J Biol Chem* 2000; 275: 36892-98.
29. Jin S, Antinore MJ, Lung FD, et al. The GADD45 inhibition of Cdc2 kinase correlates with GADD45-mediated growth suppression. *J Biol Chem* 2000; 275: 16602-8.

30. Takahashi S, Saito S, Ohtani N, Sakai T. Involvement of the Oct-1 regulatory element of the gadd45 promoter in the p53-independent response to ultraviolet irradiation. *Cancer Res* 2001; 61: 1187-95.
31. Herzinger T, Funk JO, Hillmer K, Eick D, Wolf DA, Kind P. Ultraviolet B irradiation-induced G2 cell cycle arrest in human keratinocytes by inhibitory phosphorylation of the cdc2 cell cycle kinase. *Oncogene* 1995; 11: 2151-6.
32. Gabrielli BG, Clark JM, McCormack AK, Ellem KA. Hyperphosphorylation of the N-terminal domain of Cdc25 regulates activity toward cyclin B1/Cdc2 but not cyclin A/Cdk2. *J Biol Chem* 1997; 272: 28607-14.
33. Pavay S, Russell T, Gabrielli B. G2 phase cell cycle arrest in human skin following UV irradiation. *Oncogene* 2001; 20: 6103-10.
34. Bulavin DV, Higashimoto Y, Popoff JJ, Gaarde WA, Basrur V, Potapova O, Appella E, Fornace AJ Jr. Initiation of a G2/M checkpoint after ultraviolet radiation requires p38 kinase. *Nature* 2001; 411: 102-7.
35. Shaulian E, Schreiber M, Piu F, Beeche M, Wagner EF, Karin M. The mammalian UV response: c-Jun induction is required for exit from p53-imposed growth arrest. *Cell* 2000; 103: 897-907.
36. Brose MS, Volpe P, Feldman M, et al. BRAF and RAS mutations in human lung cancer and melanoma. *Cancer Res* 2002; 62: 6997-7000.
37. Davies H, Bignell GR, Cox C, et al. Mutations of the BRAF gene in human cancer. *Nature* 2002; 417: 949-54.
38. Maldonado JL, Fridlyand J, Patel H, et al. Determinants of BRAF mutations in primary melanomas. *J Natl Cancer Inst* 2003; 95: 1878-90.
39. Bauer J, Curtin JA, Pinkel D, Bastian BC. Congenital melanocytic nevi frequently harbor NRAS mutations but no BRAF mutations. *J Invest Dermatol* 2007; 127: 179-82.
40. Bonitsis N, Batistatou A, Karantima S, Charalabopoulos K. The role of cadherin/catenin complex in malignant melanoma. *Exp Oncol* 2006; 28: 187-93.
41. Jamal S, Schneider RJ. UV-induction of keratinocyte endothelin-1 downregulates E-cadherin in melanocytes and melanoma cells. *J Clin Invest* 2002; 110: 443-52.
42. Clydesdale GJ, Dandie GW, Muller HK. Ultraviolet light induced injury: immunological and inflammatory effects. *Immunol Cell Biol* 2001; 79: 547-68.
43. Genetyka molekularna. Węgleński P (red.). Wyd. Naukowe PWN, Warszawa 1996.
44. de Gruijl FR. Photobiology of photocarcinogenesis. *Photochem Photobiol* 1996; 63: 372-5.
45. Cleaver JE, Crowley E. UV damage, DNA repair and skin carcinogenesis. *Front Biosci* 2002; 7: 1024-43.
46. D'Errico M, Teson M, Calcagnile A, et al. Differential role of transcription-coupled repair in UVB-induced response of human fibroblasts and keratinocytes. *Cancer Res* 2005; 65: 432-8.
47. Islas AL, Hanawalt PC. DNA repair in the MYC and FMS proto-oncogenes in ultraviolet light-irradiated human HL60 promyelocytic cells during differentiation. *Cancer Res* 1995; 55: 336-41.
48. Tornaletti S, Rozek D, Pfeifer GP. Mapping of UV photoproducts along the human P53 gene. *Ann N Y Acad Sci* 1994; 726: 324-6.
49. Hoeijmakers JH. From xeroderma pigmentosum to the biological clock contributions of Dirk Bootsma to human genetics. *Mutat Res* 2001; 485: 43-59.
50. Kraemer KH. Nucleotide excision repair genes involved in xeroderma pigmentosum. *Jpn J Cancer Res* 1994; 85: inside front cover.
51. Itoh T, Yamaizumi M, Ichihashi M, Hiro-Oka M, Matsui T, Matsuno M, Ono T. Clinical characteristics of three patients with UVs syndrome, a photosensitive disorder with defective DNA repair. *Br J Dermatol* 1996; 134: 1147-50.
52. van der Horst GT, van Steeg H, Berg RJ, et al. Defective transcription-coupled repair in Cockayne syndrome B mice is associated with skin cancer predisposition. *Cell* 1997; 89: 425-35.
53. Boonstra A, van Oudenaren A, Baert M, et al. Differential ultraviolet-B-induced immunomodulation in XPA, XPC, and CSB DNA repair-deficient mice. *J Invest Dermatol* 2001; 117: 141-6.
54. Choroby wewnętrzne. Przyczyny, rozpoznanie i leczenie. Szczeklika A (red.). tom I. Medycyna Praktyczna, Kraków 2005.
55. Anderson DJ. The neural crest cell lineage problem: neurogenesis? *Neuron* 1989; 3: 1-12.
56. Bomirski A, Slominski A, Bigda J. The natural history of a family of transplantable melanomas in hamsters. *Cancer Met Rev* 1988; 7: 95-119.
57. Slominski A, Paus R. Bomirski melanomas: a versatile and powerful model for pigment cell and melanoma research. *Int J Oncol* 1993; 2: 221-8.
58. Plonka PM, Slominski AT, Pajak S, Urbanska K. Transplantable melanomas in gerbils (*Meriones unguiculatus*). II – melanogenesis. *Exp Dermatol* 2003; 12: 356-64.
59. Van Den Bossche K, Naeyaert JM, Lambert J. The quest for the mechanism of melanin transfer. *Traffic* 2006; 7: 769-78.
60. Slominski A, Tobin DJ, Shibahara S, Wortsman J. Melanin pigmentation in mammalian skin and its hormonal regulation. *Physiol Rev* 2004; 84: 1155-228.
61. Sawicki W. Histologia. Podręcznik dla studentów. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 1993.
62. Borovanský J, Elleder M. Melanosome degradation: fact or fiction. *Pigment Cell Res* 2003; 16: 280-6.
63. Wood JM, Jimbow K, Boissy RE, Slominski A, Plonka PM, Slawinski J, Wortsman J, Tosk J. What is the use of generating melanin. *Exp Dermatol* 1999; 8: 153-64.
64. Plonka PM, Grabacka M. Melanin synthesis in microorganisms – biotechnological and medical aspects. *Acta Biochim Pol* 2006; 53: 429-43.
65. Jablonski NG, Chaplin G. The evolution of human skin coloration. *J Hum Evol* 2000; 39: 57-106.
66. Branda RF, Eaton JW. Skin color and nutrient photolysis: an evolutionary hypothesis. *Science* 1978; 201: 625-6.
67. Hill HZ, Hill GJ, Cieszka K, Plonka PM, Mitchell DL, Meyenhofer MF, Xin P, Boissy RE. Comparative action spectrum for ultraviolet light killing of mouse melanocytes from different genetic coat color backgrounds. *Photochem Photobiol* 1997; 65: 983-9.
68. Agar N, Young AR. Melanogenesis: a photoprotective response to DNA damage? *Mutat Res* 2005; 571: 121-32.
69. Roméro-Graillet C, Aberdam E, Aberdam E, Biagoli N, Ortonne JP, Ballotti R. Ultraviolet B radiation acts through the nitric oxide and cGMP signal transduction pathway to stimulate melanogenesis in human melanocytes. *J Biol Chem* 1996; 271: 28052-6.
70. Roméro-Graillet C, Aberdam E, Clément M, Ortonne JP, Ballotti R. Nitric oxide produced by ultraviolet-irradiated keratinocytes stimulates melanogenesis. *J Clin Invest* 1997; 99: 635-42.
71. Atoyan RY, Sharov AA, Eller MS, Sargsyan A, Botchkarev VA, Gilchrist BA. Oligonucleotide treatment increases eumelanogenesis, hair pigmentation and melanocortin-1 receptor expression in the hair follicle. *Exp Dermatol* 2007; 16: 671-7.
72. Hasse S, Chernyavsky AI, Grando SA, Paus R. The M4 muscarinic acetylcholine receptor plays a key role in the control of murine hair follicle cycling and pigmentation. *Life Sci* 2007; 80: 2248-52.
73. Pawelek JM, Chakraborty AK. The enzymology of melanogenesis. In: *The Pigmentary System. Physiology and Pathophysiology*. Nordlund JJ, Boissy RE, Hearing VJ, King RA, Ortonne JP (eds). 1st edition. Oxford University Press, Oxford – New York 1998; 391-400.
74. Ortonne JP, Ballotti R. Melanocyte biology and melanogenesis: what's new? *J Dermatol Treat* 2000; 11: S15-26.
75. Oyeaug L, Plathe E, Vage D I, Omholt SW. The regulatory basis of melanogenic switching. *J Theor Biol* 2002; 215: 449-68.
76. Riley PA. Melanogenesis: a realistic target for antimelanoma therapy? *Eur J Cancer* 1991; 27: 1172-7.
77. Sarna T, Plonka PM. Biophysical Studies of Melanin: Paramagnetic, Ion-Exchange and Redox Properties of Melanin Pigments and Their Photoreactivity. In: *Biomedical ESR. vol. 23 of the Biological Magnetic Resonance Series*. Eaton SS, Eaton GR, Berliner LJ (eds). Kluwer Academic Publishers, The Netherlands – New York – Boston 2005; 125-46.
78. Schmitz S, Thomas PD, Allen TM, Poznansky MJ, Jimbow K. Dual role of melanins and melanin precursors as photoprotective and phototoxic agents: inhibition of ultraviolet radiation-induced lipid peroxidation. *Photochem Photobiol* 1995; 61: 650-5.
79. Nowak-Sliwinska P, Karocki A, Elas M, Pawlak A, Stochel G, Urbanska K. Verteporfin, photofrin II, and merocyanine 540 as PDT photosensitizers against melanoma cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2006; 349: 549-55.
80. Stevens G, Hong A. Radiation therapy in the management of cutaneous melanoma. *Surg Oncol Clin N Am* 2006; 15: 353-71.
81. Urbanska K, Romanowska-Dixon B, Elas M, Pajak S, Paziewski E, Bryk J, Kukielczak B, Slominski A, Zygulska-Mach H, Lukiewicz S. Experimental ruthenium plaque therapy of amelanotic and melanotic melanomas in the hamster eye. *Melanoma Res* 2000; 10: 26-35.

82. Kozik A, Korytowski W, Sarna T, Bloom AS. Interactions of flavins with melanin. Studies on equilibrium binding of riboflavin to dopamelanin and some spectroscopic characteristics of flavinmelanin complex. *Biophys Chem* 1990; 38: 39-48.
83. Larsson B, Tjalve H. Studies on the mechanism of drug binding to melanin. *Biochem Pharmacol* 1979; 28: 1181-7.
84. Halaban R, Lerner AB. Tyrosinase and inhibition of proliferation of melanoma cells and fibroblasts. *Exp Cell Res* 1977; 108: 119-25.
85. Pawelek JM, Lerner AB. 5,6-dihydroxyindole is a melanin precursor showing potent cytotoxicity. *Nature* 1978; 276: 626-8.
86. Hill HZ, Hill GJ. Eumelanin causes DNA strand breaks and kills cells. *Pigment Cell Res* 1987; 1: 163-70.
87. Korytowski W, Pilas B, Sarna T, Kalyanaraman B. Photoinduced generation of hydrogen peroxide and hydroxyl radicals in melanin. *Photochem Photobiol* 1987; 45: 185-90.
88. Slominski A, Paus R, Mihm MC. Inhibition of melanogenesis as an adjuvant strategy in the treatment of melanotic melanomas: selective review and hypothesis. *Anticancer Res* 1998; 18: 3709-16.
89. Miller SJ, Wei ZG, Wilson C, Dzubow L, Sun TT, Lavker RM. Mouse skin is particularly susceptible to tumor initiation during early anagen of the hair cycle: possible involvement of hair follicle stem cells. *J Invest Dermatol* 1993; 101: 591-4.
90. Weinstein GD, Mooney KM. Cell proliferation kinetics in the human hair root. *J Invest Dermatol* 1980; 74: 43-6.
91. Slominski A, Paus R. Melanogenesis is coupled to murine anagen: toward new concepts for the role of melanocytes and the regulation of melanogenesis in hair growth. *J Invest Dermatol* 1993; 101: 90S-97S.
92. Slominski A, Wortsman J, Carlson A J, Matsuoka LY, Balch CM, Mihm M. Malignant melanoma. *Arch Pathol Lab Med* 2001; 125: 1295-306.
93. Slominski A, Wortsman J, Nickoloff B, McClatchey K, Mihm MC, Ross JS. Molecular pathology of malignant melanoma. *Am J Clin Pathol* 1998; 110: 788-94.
94. Cascinelli N, Herlyn M, Schneeberg A, et al. What is the most promising strategy for the treatment of metastasizing melanoma? *Exp Dermatol* 2000; 9: 439-51.
95. Bertolotto C, Abbe P, Hemesath T J, Bille K, Fisher DE, Ortonne JP, Ballotti R. Microphthalmia gene product as a signal transducer in cAMP-induced differentiation of melanocytes. *J Cell Biol* 1998; 142: 827-35.
96. Englaro W, Bertolotto C, Busca R, Brunet A, Pages G, Ortonne JP, Ballotti R. Inhibition of the mitogen-activated protein kinase pathway triggers B16 melanoma cell differentiation. *J Biol Chem* 1998; 273: 9966-70.
97. Haddad MM, Xu W, Schwahn DJ, Liao F, Medrano EE. Activation of a cAMP pathway and induction of melanogenesis correlate with association of p16 (INK4) and p27 (KIP1) to CDKs, loss of E2F-binding activity, and premature senescence of human melanocytes. *Exp Cell Res* 1999; 253: 561-72.
98. Bennett DC, Medrano EE. Molecular regulation of melanocyte senescence. *Pigment Cell Res* 2002; 15: 242-50.
99. Nishimura I, Shimizu S, Sakoda JY, Yoshikawa K. Expression of Drosophila MAGE gene encoding a necdin homologous protein in postembryonic neurogenesis. *Gene Expr Patterns* 2007; 7: 244-51.
100. Meierjohann S, Scharlt M. From Mendelian to molecular genetics: the Xiphophorus melanoma model. *Trends Genet* 2006; 22: 654-61.
101. Wood SR, Berwick M, Ley RD, Walter RB, Setlow RB, Timmins GS. UV causation of melanoma in Xiphophorus is dominated by melanin photosensitized oxidant production. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; 103: 4111-5.
102. Parsons PG, Takahashi H, Candy J, Meyers B, Vickers J, Kelly WR, Smith I, Spradbrow P. Histopathology of melanocytic lesions in goats and establishment of a melanoma cell line: a potential model for human melanoma. *Pigment Cell Res* 1990; 3: 297-305.
103. Smith SH, Goldschmidt MH, McManus PM. A comparative review of melanocytic neoplasms. *Vet Pathol* 2002; 39: 651-78.
104. Pajak S, Cieszka K, Plonka P, Lukiewicz S, Mihm M, Slominski A. Transplantable melanomas in gerbils (*Meriones unguiculatus*). I. Origin, morphology and growth rate. *Anticancer Res* 1996; 16: 1203-8.
105. Green EL. Handbook of Genetically Standardized JAX Mice. Bar Harbor Times Publishing Company, Bar Harbor, Maine 1962.
106. Loustalot P, Algire GH, Legallais FY, Anderson BF. Growth and histopathology of melanotic and amelanotic derivatives of the Clodman melanoma S91. *J Natl Cancer Inst* 1952; 12: 1079-117.
107. Noonan FP, Dudek J, Merlino G, De Fabo EC. Animal models of melanoma: an HGF/SF transgenic mouse model may facilitate experimental access to UV initiating events. *Pigment Cell Res* 2003; 16: 16-25.
108. Slominski A, Wortsman J, Plonka PM, Schallreuter KU, Paus R, Tobin DJ. Hair follicle pigmentation. *J Invest Dermatol* 2005; 124: 13-21.
109. Noonan FP, Recio JA, Takayama H, Duray P, Anvers MR, Rush WL, de Fabo EC, Merlino G. Neonatal sunburn and melanoma in mice. *Nature* 2001; 413: 271-2.
110. Komada M, Kitamura N. The cell dissociation and motility triggered by scatter factor/hepatocyte growth factor are mediated through the cytoplasmic domain of the c-Met receptor. *Oncogene* 1993; 8: 2381-90.
111. Otsuka T, Takayama H, Sharp R, et al. c-Met autocrine activation induces development of malignant melanoma and acquisition of the metastatic phenotype. *Cancer Res* 1998; 58: 5157-67.
112. Recio JA, Noonan FP, Takayama H, et al. Ink4a/arf deficiency promotes ultraviolet radiation-induced melanomagenesis. *Cancer Res* 2002; 62: 6724-30.
113. De Fabo EC, Noonan FP, Fears T, Merlino G. Ultraviolet B but not ultraviolet A radiation initiates melanoma. *Cancer Res* 2004; 64: 6372-6.
114. Yamazaki F, Okamoto H, Miyauchi-Hashimoto H, Matsumura Y, Itoh T, Tanaka K, Kunisada T, Horio T. XPA gene-deficient, SCF-transgenic mice with epidermal melanin are resistant to UV-induced carcinogenesis. *J Invest Dermatol* 2004; 123: 220-8.
115. Alexeev V, Yoon K. Distinctive role of the ckit receptor tyrosine kinase signaling in mammalian melanocytes. *J Invest Dermatol* 2006; 126: 1102-10.

Adres do korespondencji

dr n. biol. **Agnieszka Wolnicka-Głubisz**
 Zakład Biofizyki
 Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii
 Uniwersytet Jagielloński
 ul. Gronostajowa 7
 30-387 Kraków
 e-mail: wolnicka@biotka.mol.uj.edu.pl